



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



Veröffentlichungsnummer: **0 507 337 A2**

12

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

21 Anmeldenummer: **92105822.8**

22 Anmeldetag: **03.04.92**

51 Int. Cl.5: **C07F 9/113, A61K 31/66,  
C07F 9/572, C07F 9/59,  
C07F 9/10, C07F 9/173,  
C07F 9/655, C07F 9/09**

30 Priorität: **05.04.91 DE 4111105**

43 Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
**07.10.92 Patentblatt 92/41**

84 Benannte Vertragsstaaten:  
**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU MC  
NL PT SE**

71 Anmelder: **Max-Planck-Gesellschaft zur  
Förderung der Wissenschaften e.V.  
Bunsenstrasse 10  
W-3400 Göttingen(DE)**

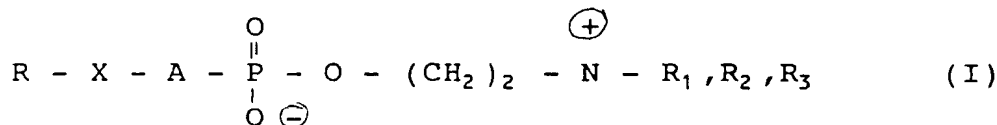
72 Erfinder: **Eibl, Hansjörg, Prof. Dr.  
Heinrich-Deppe-Ring 22**

**W-3406 Bovenden-Eddigehausen(DE)**

74 Vertreter: **Huber, Bernhard, Dipl.-Chem. et al  
Patentanwälte H. Weickmann, Dr. K. Fincke  
F.A. Weickmann, B. Huber Dr. H. Liska, Dr. J.  
Prechtel Kopernikusstrasse 9 Postfach 86 08  
20  
W-8000 München 86(DE)**

54 **Neue Erucyl-, Brassidyl- und Nervonylderivate.**

57 Die Erfindung betrifft Verbindungen der allgemeinen Formel I

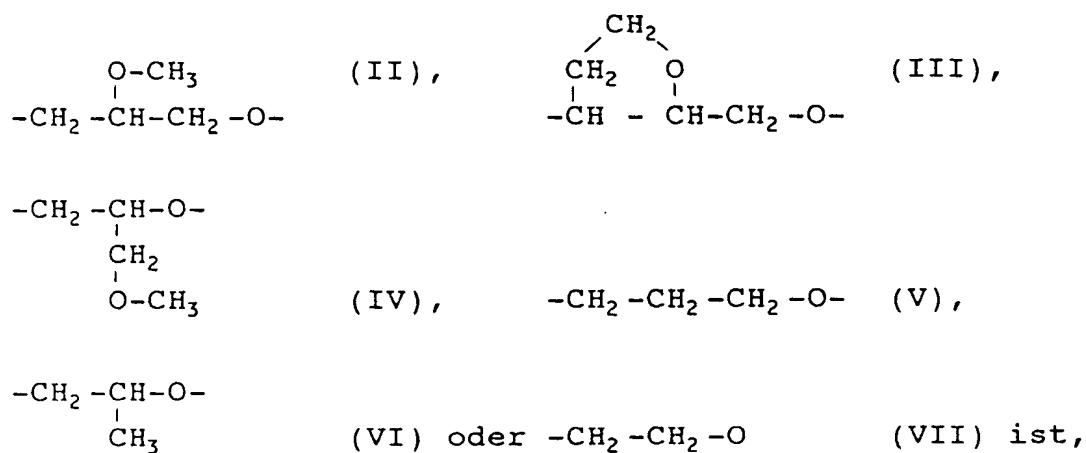


in der R einen Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonyl-Rest,

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> unabhängig voneinander je einen geradkettigen, verzweigten, cyclischen gesättigten oder ungesättigten Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen, der auch eine OH-Gruppe enthalten kann und wobei zwei dieser Reste auch zu einem Ring verbunden sein können,

A eine Einfachbindung oder eine der Gruppen mit den Formeln

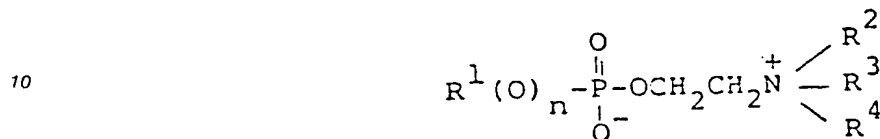
EP 0 507 337 A2



wobei die Gruppen (II) bis (VII) eine solche Orientierung besitzen, daß das Sauerstoffatom an das Phosphoratom der Verbindung (I) gebunden ist,  
 und X ein Sauerstoffatom ist, wenn A eine Einfachbindung ist oder ein Sauerstoff- oder Schwefelatom bedeutet,  
 wenn A eine der Gruppen (II) bis (VII) ist, sowie deren Verwendung als Arzneimittel.

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Phospholipide, die einen Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonyl-Rest enthalten, und deren Verwendung als Arzneimittel, insbesondere zur Bekämpfung von Tumoren sowie Protozoen- und Pilzkrankungen, sowie zur Therapie von Autoimmunerkrankungen und Knochenmarkschädigungen.

- 5 Die Verwendung von Phospholipiden als Arzneimittel ist bekannt. Die EP-A 0 108 565 offenbart Phospholipide, einschließlich ihrer pharmazeutisch verträglichen Salze der allgemeinen Formel

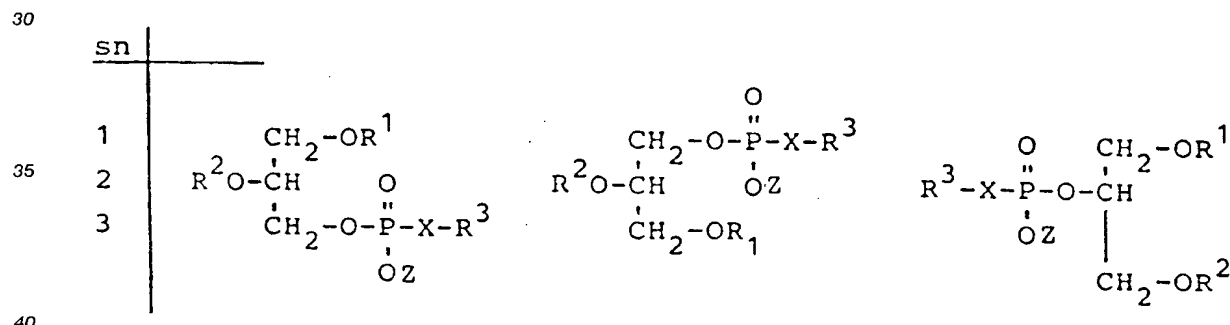


- 15 worin R<sup>1</sup> ein aliphatischer C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub>-Kohlenwasserstoffrest ist, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> unabhängig Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>-Alkyl sind oder worin



- 25 cyclisches Ammonium darstellt und n 0 oder 1 ist. Vorzugsweise ist R<sup>1</sup> ein aliphatischer Kohlenwasserstoffrest mit 12 bis 22, besonders bevorzugt mit 14, 17 oder 18 Kohlenstoffatomen. Diese Verbindungen werden als geeignet zur Bekämpfung von Tumorzellen oder Pilzkrankungen oder zur Verwendung als Pflanzenschutzmittel bezeichnet.

Die DE-OS 32 39 817 offenbart Glycerinderivate der allgemeinen Formel



- 35 worin R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> u.a. substituierte oder unsubstituierte Alkylreste mit 1 bis 24 Kohlenstoffatomen bedeuten können, X u.a. Sauerstoff bedeuten kann und R<sup>3</sup> u.a. eine Aminoalkylgruppe und eine N-Alkylaminoalkylgruppe mit 2 bis 14 Kohlenstoffatomen in den Alkylresten bedeuten kann. Weiterhin sind dort auch  
45 allgemeine Verfahren zur Herstellung der obigen Verbindungen offenbart, so daß man Glycerinderivate mit verschiedenen Resten stellungsspezifisch und mit hoher Selektivität herstellen kann.

Die DE-OS 36 41 379 offenbart Verbindungen der allgemeinen Formel



- 55 worin R einen Kohlenwasserstoffrest mit 12 bis 24 C-Atomen sein kann, X u.a. O bedeutet und R<sup>1</sup> u.a. eine Alkylgruppe bedeuten kann, die mit unterschiedlichen Aminogruppen substituiert sein kann. Vorzugsweise ist R ein Alkyl- oder Alkylrest mit 14 bis 20 C-Atomen, X = O und R<sup>1</sup> = Trialkylammoniummethyl mit 1 bis 3 C-Atomen je Alkylgruppe. Besonders bevorzugt sind die Verbindungen Hexadecylphosphocholin und Oleylphosphocholin. Ferner wird die Verwendung der oben genannten Verbindungen als Arzneimittel, insbesondere zur Behandlung von Tumoren offenbart. Derartige Arzneimittel können auch zur topischen

Behandlung von Hauttumoren als zusätzlichen Wirkstoff Alkylglycerin enthalten. Es werden auch allgemeine Herstellungsmethoden für die Verbindungen gemäß der oben genannten allgemeinen Formel gelehrt.

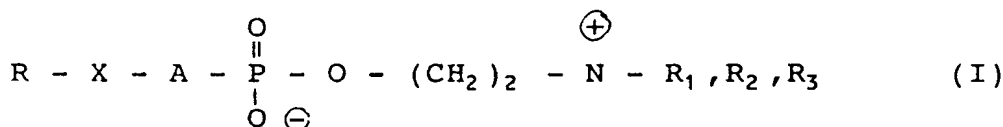
Die DE-OS 36 41 491 offenbart ein Antitumor-wirksames Arzneimittel, das Hexadecylphosphocholin als Wirkstoff sowie gegebenenfalls weitere übliche pharmazeutische Zusatz-, Träger- und/oder Verdünnungs-  
 5 stoffe enthält. Ein derartiges Arzneimittel kann als zusätzlichen Wirkstoff auch ein Alkylglycerin enthalten.

Weiterhin ist bekannt, daß ein in Position 2 methyliertes Glycerinderivat von Hexadecylphosphocholin das Etherphospholipid ET-18-OCH<sub>3</sub> ein sehr wirksames Antitumormittel ist (siehe z.B. Berdel et al. in Phospholipids and Cellular Regulation (1985), herausgegeben J.F. Kuo, Seiten 41-74, CRC-Press, Boca Raton, Florida). Ferner hat sich ET-18-OCH<sub>3</sub> auch als geeignetes Arzneimittel zur Bekämpfung von  
 10 Autoimmunkrankheiten wie etwa Multipler Sklerose erwiesen.

Aus den oben genannten Veröffentlichungen ist ersichtlich, daß Phosphatidylamine und Etherlysocitine als Arzneimittel für unterschiedliche Anwendungen, z.B. zur Bekämpfung von Tumoren und Autoimmunerkrankungen, geeignet sind. Als bisher wirksamste Arzneimittel aus dieser Verbindungsklasse haben sich Hexadecylphosphocholin und ET-18-OCH<sub>3</sub> erwiesen. Jedoch auch diese Substanzen haben den Nachteil,  
 15 daß sie bei hoher Dosierung eine toxische Wirkung zeigen. Ein weiterer Nachteil der bisher bekannten Phospholipide ist, daß sie eine Zytolyse von Zellen, insbesondere ein Hämolyse von Erythrozyten bewirken. Deshalb können diese Substanzen nicht intravenös appliziert werden, da dies zu hämolytischen und gewebeekrotischen Begleiterscheinungen führt, wie detailliert in der DE 40 26 136 beschrieben ist.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es somit, neue Phospholipide zu finden, die als Arzneimittel  
 20 wirksam sind, bei denen jedoch die Nachteile des Standes der Technik mindestens teilweise beseitigt sind.

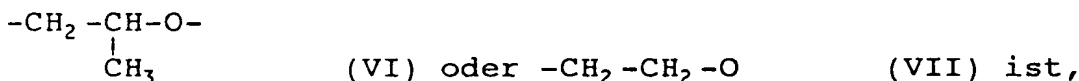
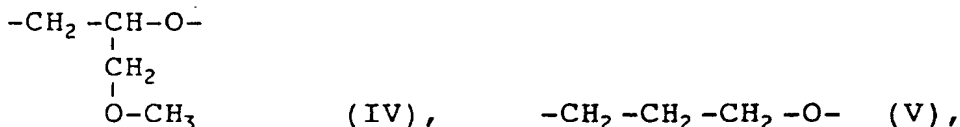
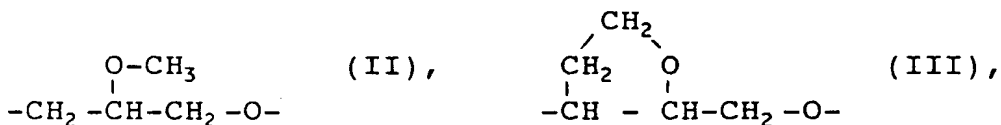
Die erfindungsgemäße Aufgabe wird gelöst durch Verbindungen der allgemeinen Formel I



in der R einen Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonyl-Rest,

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> unabhängig voneinander je einen geradkettigen, verzweigten, cyclischen gesättigten oder ungesättigten Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen, der auch eine OH-Gruppe enthalten kann und wobei zwei dieser Reste auch zu einem Ring verbunden sein können,

A eine Einfachbindung oder eine der Gruppen mit den Formeln



wobei die Gruppen (II) bis (VII) eine solche Orientierung besitzen, daß das Sauerstoffatom an das Phosphoratom der Verbindung (I) gebunden ist,

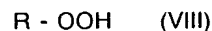
und X ein Sauerstoffatom ist, wenn A eine Einfachbindung ist oder ein Sauerstoff- oder Schwefelatom bedeutet, wenn A eine der Gruppen (II) bis (VII) ist.

In der obigen Formel (I) bedeutet X vorzugsweise ein Sauerstoffatom, und A bedeutet vorzugsweise eine Einfachbindung. Weiterhin bevorzugt ist, daß R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> jeweils Methylgruppen sind, so daß es

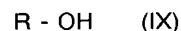
sich bei den resultierenden Verbindungen um Phosphocholinderivate handelt. Besonders bevorzugt ist Erucylphosphocholin.

Erucyl-, Brassidyl- und Nervonyl-Reste sind langkettige Alkylreste. Sie können aus den entsprechenden Fettsäuren, die teilweise natürlich vorkommen, gewonnen werden. Die Erucasäure (cis-13-Docosensäure) kommt als Glycerinester in Senf-, Traubenkern-, Dorschleber- und Cruciferenölen, insbesondere in Rapsöl vor. Die dazu stereoisomere Brassidinsäure (trans-13-Docosensäure) kommt in der Natur nicht vor, ist jedoch bei Erwärmen mit salpetriger Säure aus der Erucasäure erhältlich. Die Nervonsäure (Selacholeinsäure, cis-15-Tetracosensäure) kommt in Haifischleberölen, Sphingomyelinen und Cerebrosiden, insbesondere Nervon vor.

Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Substanzen können diese Fettsäuren der allgemeinen Formel (VIII):



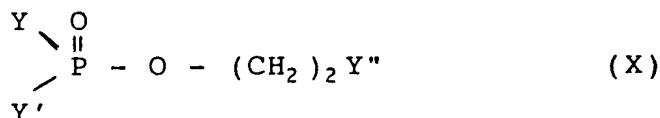
in der R ein Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonylrest ist, durch Reduktion nach bekannten Methoden, vorzugsweise mit  $LiAlH_4$  in die entsprechenden Alkohole der allgemeinen Formel (IX):



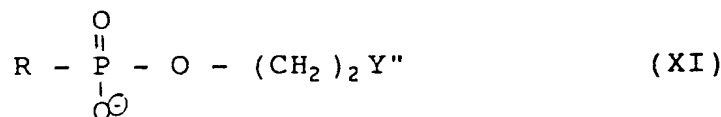
überführt werden. Diese Alkohole können dann nach ebenfalls bekannten Verfahren in die erfindungsgemäßen Substanzen überführt werden.

Die Herstellung von erfindungsgemäßen Verbindungen (I), bei denen X ein Sauerstoffatom und A eine Einfachbindung bedeutet, können z.B. nach den in DE 27 52 125, EP-A 0 108 565, DE 36 41 491, DE 36 41 379, DE 36 41 377 und DE 40 13 632 offenbarten Verfahren oder gemäß der darin zitierten Literatur hergestellt werden.

Vorzugsweise wird dabei der Alkohol R-OH bei dem R einen Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonyl-Rest darstellt, direkt durch Phosphorylierung in die entsprechenden Alkylphosphoaminderivate, insbesondere in die entsprechenden Alkylphosphocholine überführt. Hierzu kann man z.B. den Alkohol (IX) mit einer Verbindung der allgemeinen Formel (X):

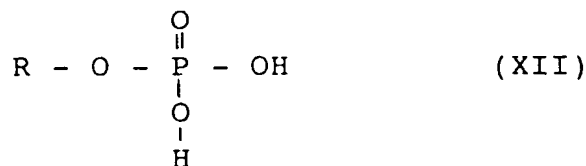


umsetzen, wobei Y, Y' und Y'' Halogenreste darstellen (z.B. kann es sich bei der Verbindung (X) um 2-Bromethyl-phosphordichlorid handeln). Aus dieser Reaktion und anschließender Aufarbeitung durch Hydrolyse resultiert eine Verbindung mit der allgemeinen Formel (XI):



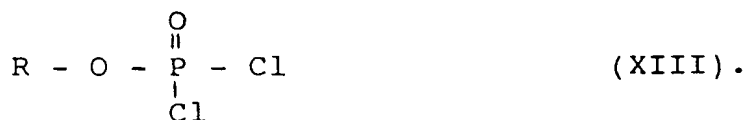
bei der R und Y'' die oben genannten Bedeutungen besitzen. Der letzte Schritt der Reaktion umfaßt die Umsetzung dieser Verbindung (XI) mit einem Amin der Formel  $N - R_1, R_2, R_3$  bzw. einem quarternären Ammoniumsalz der Formel  $HN^+ R_1, R_2, R_3 Y''^-$ , wobei  $R_1, R_2$  und  $R_3$  die in Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen besitzen. Beispiele für erfindungsgemäß geeignete tertiäre Amine sind etwa Trimethylamin, Dimethylethylamin, Diethylmethylamin, Triethylamin, N,N-Dimethyl-N-propylamin, N,N-Dimethyl-N-iso-propylamin, N-Cyclopropyl-N,N-dimethylamin, N-Allyl-N,N-dimethylamin, N-Ethyl-N-methyl-N-propylamin, N-Butyl-N,N-dimethylamin, N,N-Dimethyl-N-hydroxyethylamin, N,N-Dihydroxyethyl-N-methylamin, N-Cyclobutyl-N,N-dimethylamin, N-Methylpyrrolidin, N-Ethylpyrrolidin, N-Methylmorpholin und dgl..

Andererseits kann man zur Herstellung der erfindungsgemäßen Substanzen den Alkohol (IX) mit Phosphoroxyltrichlorid ( $POCl_3$ ) umsetzen. Bei nachfolgender Hydrolyse erhält man ein Produkt der allgemeinen Formel (XII)

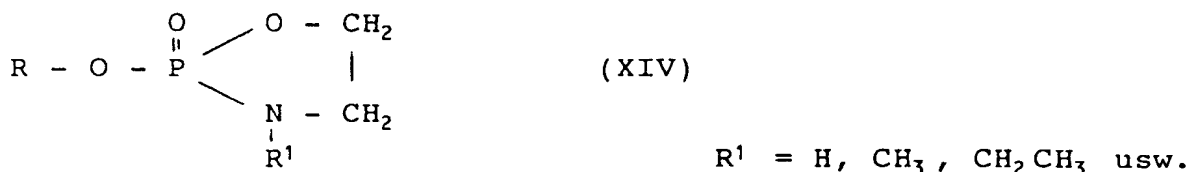


Dieses Produkt wiederum kann mit einem tertiären Ammoniumsalz der Formel  $\text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{-N}^+\text{-R}_1\text{R}_2\text{R}_3$  zu einer erfindungsgemäßen Substanz der allgemeinen Formel I umgesetzt werden. Die detaillierten Reaktionsbedingungen sind dabei aus den oben genannten Literaturstellen zu entnehmen.

Das bevorzugte Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Substanzen ist die Umsetzung des Alkohols (IX) mit  $\text{POCl}_3$  unter Bildung des entsprechenden Phosphorsäuredichlorids (XIII)

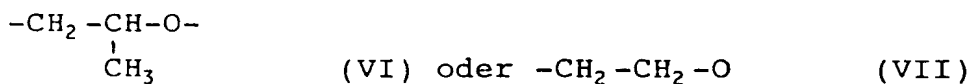
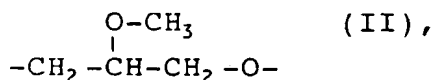


Diese Verbindung wird mit einem Ethanolamin oder einem entsprechend substituierten Ethanolamin zu einem heterozyklischen 5-Ring umgesetzt (XIV)



Die Öffnung des Ringes unter sauren Bedingungen führt zu den entsprechenden Phosphoethanolaminen, die durch Alkylierung in die gewünschten peralkylierten Verbindungen der allgemeinen Formel I, u.a. in Phosphocholin umgewandelt werden können. Dieses Verfahren ist detailliert in H. Eibl (Proc.Natl.Acad. Sci. USA 75 (1978), 4074-4077) beschrieben.

Die Herstellung von erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I), wo A eine Gruppe mit den Formeln (II), (IV), (V), (VI) und (VII)



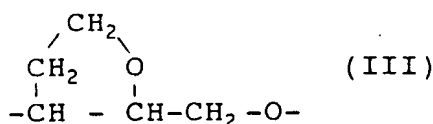
ist, erfolgt ebenfalls nach bekannten Verfahren. Ein Beispiel hierfür ist neben den bereits oben zitierten Methoden insbesondere die DE 32 39 817. Ferner können die Alkohole der Formel (IX) auch über ihre Mesylate in die entsprechenden Alkylglycerine oder anderen Derivate umgewandelt werden, deren Phosphorylierung dann zu erfindungsgemäßen Substanzen führt.

Die Herstellung von Verbindungen, bei denen X Schwefel ist, kann gemäß Bosies et al. (Lipids 22 (1987), 947-951) durch eine mehrstufige Reaktion aus Glycerin und einem Thiol der allgemeinen Formel (XV):



erfolgen, wobei R ein Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonylrest ist. Andererseits kann die Phosphorylierung des Thiols auch durch die oben zitierten Phosphorylierungsmethoden erfolgen.

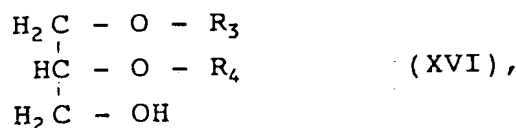
Die Herstellung von Verbindungen der Formel (I), bei denen A eine Gruppe mit der Formel (III)



darstellt, erfolgt gemäß Houlihan et al. (Lipids 22 (1987), 884-890) ausgehend von der kommerziell erhältlichen 2-Furancarbonsäure. Andererseits kann der Alkohol als Grundkörper jedoch auch nach den oben zitierten Methoden phosphoryliert und weiter umgesetzt werden.

20 Die erfindungsgemäßen Substanzen haben sich sehr gut als Arzneimittel geeignet erwiesen. Ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher auch ein Arzneimittel, das als Wirkstoff eine oder mehrere der erfindungsgemäßen Substanzen, gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger-, Hilfs-, Füll- und Verdünnungsmitteln enthält. Vorzugsweise enthält das erfindungsgemäße Arzneimittel als Wirkstoff Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonylphosphocholin, besonders bevorzugt Erucylphosphocholin.

25 Die erfindungsgemäßen Substanzen können auch in Kombination mit Alkylglycerinen der allgemeinen Formel (XVI)



35 verwendet werden, in der einer der Reste  $\text{R}^3$  und  $\text{R}^4$  eine Alkylgruppe mit 2 bis 12 C-Atomen und der andere Rest ein H-Atom bedeutet. Vorzugsweise enthält ein derartiges Arzneimittel ein Alkylglycerin-Gemisch aus Nonyl- bzw. Octylglycerin, Hexyl- bzw. Pentylglycerin und Propyl- bzw. Ethylglycerin sowie Wasser. Derartige Arzneimittelkombinationen von Alkylglycerinen und Phospholipiden und die bevorzugten Gehalte der einzelnen Wirkstoffe sind in der DE-OS 36 41 379 offenbart. Die Arzneimittel, die eine

40 erfindungsgemäße Substanz in Kombination mit mindestens einem Alkylglycerin enthalten, sind insbesondere zur topischen Applikation geeignet.

Überraschenderweise besitzen die erfindungsgemäßen Substanzen, insbesondere die Erucyl- und Nervonylderivate keine hämolytischen Eigenschaften, wie sie bei anderen Lysolecitinen beobachtet wurden. Deshalb können diese Substanzen in physiologischen Lösungen (Kochsalz-, Ringer- etc.) aufgenommen

45 und intravenös appliziert werden. Noch überraschender ist aber die Tatsache, daß diese Substanzen gegenüber Hexadecylphosphocholin eine deutlich bessere Wirkung besitzen.

Besonders geeignet haben sich die erfindungsgemäßen Arzneimittel zur Bekämpfung von Tumoren erwiesen. So wird mit Erucylphosphocholin eine gegenüber Hexadecylphosphocholin in gleichen Mengen erheblich verbesserte Kontrolle des Tumorwachstums bei Methylnitroharnstoff induzierten Mammakarzinomen erzielt. Die erfindungsgemäßen Arzneimittel sind weiterhin zur Bekämpfung von Protozoen- und Pilzkrankungen, insbesondere der Leishmaniasis geeignet. Ferner eignen sich die erfindungsgemäßen

50 Arzneimittel auch zur Therapie von Autoimmunerkrankungen, insbesondere von Multipler Sklerose. Überdies ist eine Therapie von Knochenmarkschädigungen möglich, die durch Behandlung mit Zytostatika und anderen knochenmarkschädigenden Wirkstoffen aufgetreten ist.

55 Weiterhin ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist auch ein Verfahren zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Arzneimittels, das insbesondere als Antitumormittel, Mittel zur Bekämpfung von Protozoen- und Pilzkrankungen, insbesondere von Leishmaniasis, als Mittel zur Therapie von Autoimmunerkrankungen, insbesondere von Multipler Sklerose sowie als Mittel zur Therapie von Knochenmarkschädi-

gungen formuliert ist.

Durch Verabreichung des erfindungsgemäßen Arzneimittels werden Verfahren zur Bekämpfung von Tumoren, Protozoen- und Pilzkrankungen, Autoimmunerkrankungen oder Knochenmarkschädigungen bereitgestellt. Vorzugsweise wird dabei das Arzneimittel intravenös verabreicht. Es ist jedoch ebenfalls eine

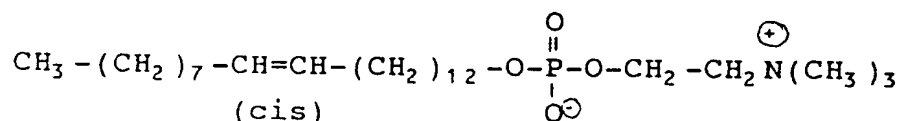
Die vorliegende Erfindung soll durch die folgenden Beispiele weiter verdeutlicht werden.

### Beispiele

#### Gruppe I: Erucylreste und Brassidylreste

##### Beispiel 1

##### Erucyl-Phosphocholin

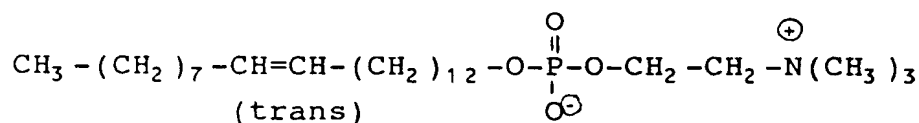


|  |          |          |         |         |
|--|----------|----------|---------|---------|
| C <sub>27</sub> H <sub>56</sub> NO <sub>4</sub> P; 489.722 |          |          |         |         |
| ber.(%):   | C, 66.22 | H, 11.53 | N, 2.86 | P, 6.33 |
| gef.(%):   | 65.98    | 11.45    | 2.69    | 6.21    |

Die Herstellung der Verbindungen gemäß den Beispielen 1 bis 19 und 33 bis 35 erfolgt gemäß Methoden, wie sie z.B. in DE 27 52 125, DE 36 41 379, DE 36 41 491, DE 36 41 377 und DE 40 13 632 oder der darin zitierten Literatur beschrieben sind.

##### Beispiel 2

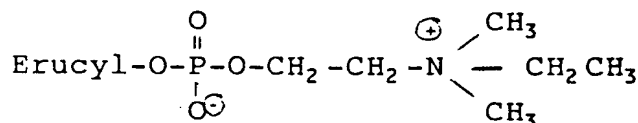
##### Brassidyl-Phosphocholin



|  |          |          |         |         |
|--|----------|----------|---------|---------|
| C <sub>27</sub> H <sub>56</sub> NO <sub>4</sub> P; 489.722 |          |          |         |         |
| gef. (%)   | C, 66.04 | H, 11.50 | N, 2.54 | P, 6.17 |

##### Beispiel 3

##### Erucyl-phospho-(N,N-dimethyl-N-ethyl)-ethanolamin





| C <sub>28</sub> H <sub>58</sub> NO <sub>4</sub> P, 503.749 |          |          |         |         |
|--|----------|----------|---------|---------|
| ber. (%):  | C, 66.76 | H, 11.61 | N, 2.78 | P, 6.15 |
| gef. (%):  | 66.51    | 11.53    | 2.69    | 6.01    |

5

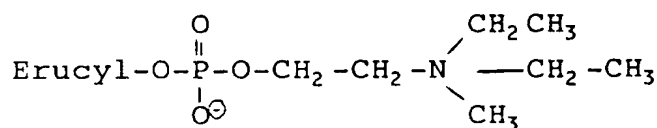
Beispiel 4

Brassidyl-phospho-(N,N-dimethyl-N-ethyl)-ethanolamin

10 C<sub>28</sub>H<sub>58</sub>NO<sub>4</sub>P; 503.749Beispiel 5

15 Erucyl-phospho-(N,N-diethyl-N-methyl)-ethanolamin

20

C<sub>29</sub>H<sub>60</sub>NO<sub>4</sub>P; 517.776

25

Beispiel 6

Brassidyl-phospho-(N,N-diethyl-N-methyl)-ethanolamin

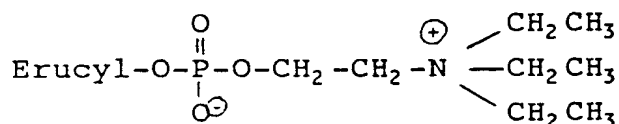
C<sub>29</sub>H<sub>60</sub>NO<sub>4</sub>P; 517.776

30

Beispiel 7

Erucyl-phospho-(N,N,N-triethyl)-ethanolamin

35

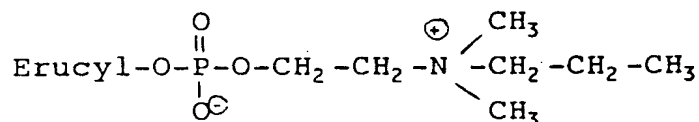


40

C<sub>30</sub>H<sub>62</sub>NO<sub>4</sub>P; 531.803Beispiel 8

45 Erucyl-phospho-(N,N-dimethyl-N-propyl)-ethanolamin

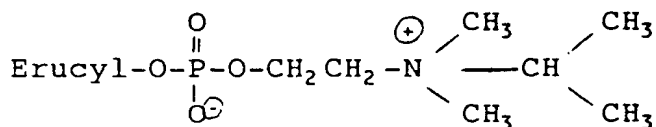
50

C<sub>29</sub>H<sub>60</sub>NO<sub>4</sub>P; 517.776

55

Beispiel 9

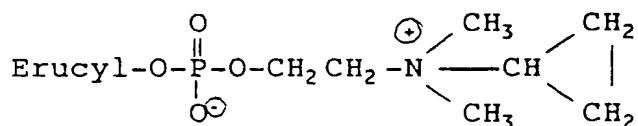
Erucyl-phospho-(N,N-dimethyl-N-isopropyl)-ethanolamin



$\text{C}_{29}\text{H}_{60}\text{NO}_4\text{P}$ ; 517.776

10 Beispiel 10

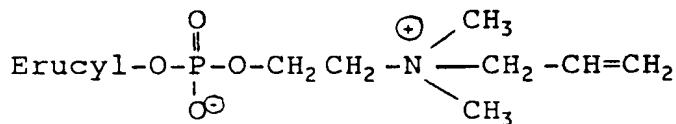
Erucyl-phospho-(N-cyclopropyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin



$\text{C}_{29}\text{H}_{58}\text{NO}_4\text{P}$ ; 515.760

Beispiel 11

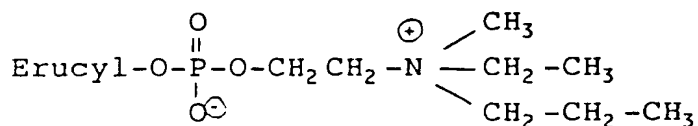
25 Erucyl-phospho-(N-allyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin



$\text{C}_{29}\text{H}_{58}\text{NO}_4\text{P}$ ; 515.760

35 Beispiel 12

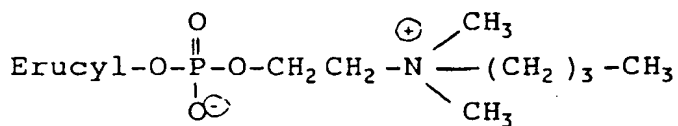
Erucyl-phospho-(N-ethyl-N-methyl-N-propyl)-ethanolamin



$\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{NO}_4\text{P}$ ; 531.803

Beispiel 13

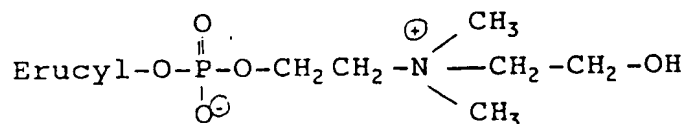
50 Erucyl-phospho-(N-butyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin



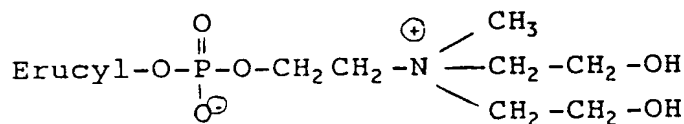
$\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{NO}_4\text{P}$ ; 530.803

Beispiel 14

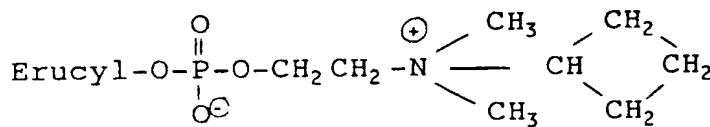
Erucyl-phospho-(N,N-dimethyl-N-hydroxyethyl)-ethanolamin

 $\text{C}_{28}\text{H}_{58}\text{NO}_5\text{P}$ ; 519.748Beispiel 15

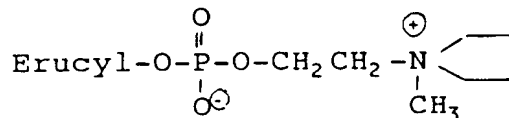
Erucyl-phospho-(N,N-dihydroxyethyl-N-methyl)-ethanolamin

 $\text{C}_{29}\text{H}_{60}\text{NO}_5\text{P}$ ; 549.774Beispiel 16

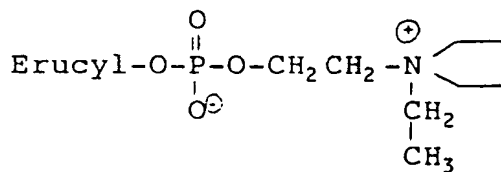
Erucyl-phospho-(N-cyclobutyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin

 $\text{C}_{30}\text{H}_{60}\text{NO}_4\text{P}$ ; 529.787Beispiel 17

Erucyl-phosphorsäure-(N-methyl)-pyrrolidinoethylester

 $\text{C}_{29}\text{H}_{58}\text{NO}_4\text{P}$ ; 515.760Beispiel 18

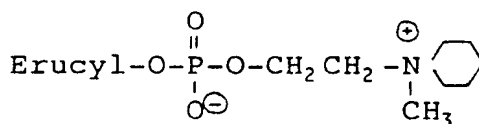
Erucyl-phosphorsäure-(N-ethyl)-pyrrolidinoethylester



$\text{C}_{30}\text{H}_{60}\text{NO}_4\text{P}$ ; 529.787

#### Beispiel 19

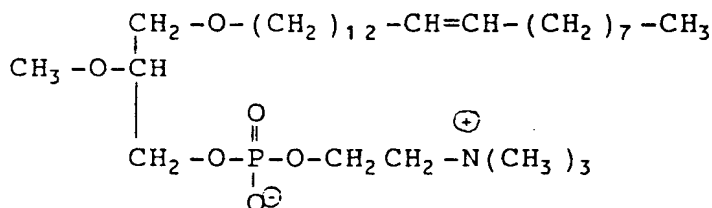
Erucyl-phosphorsäure-(N-methyl)-morpholino-ethylester



$\text{C}_{30}\text{H}_{60}\text{NO}_4\text{P}$ ; 529.787

#### Beispiel 20

1-Erucyl-2-methyl-rac-glycero-3-phosphocholin



$\text{C}_{31}\text{H}_{64}\text{NO}_6\text{P}$ ; 577.828

Die Herstellung der Verbindungen gemäß den Beispielen 20 bis 22 und 27 bis 32 erfolgt wie z.B. in der DE 32 39 817 und der dort zitierten Literatur oder wie in Beispiel 1 beschrieben.

#### Beispiel 21

1-Erucyl-2-methyl-sn-glycero-3-phosphocholin

#### Beispiel 22

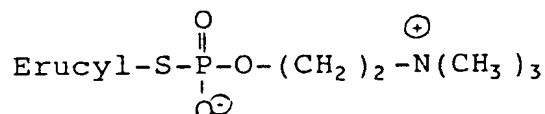
3-Erucyl-2-methyl-sn-glycero-1-phosphocholin

Alle Modifikationen bezüglich der Aminogruppe sowie der Austausch des Erucylrests gegen einen Brassidylrest, die in den Beispielen 1 bis 19 beschrieben worden sind, können auch auf das Grundgerüst 1-Erucyl-2-methyl-glycerin übertragen werden, mit der gleichen Methodologie und vergleichbaren Ausbeuten.

#### Beispiel 23

1-Erucylmercapto-2-methoxymethylpropyl-2'-(N.N.N-trimethyl)-ammonio-ethylphosphat

$\text{C}_{32}\text{H}_{66}\text{NO}_5\text{PS}$ , 607.916



|          |          |          |         |         |
|----------|----------|----------|---------|---------|
| ber.(%): | C, 63.23 | H, 10.94 | N, 2.30 | P, 5.10 |
| gef.(%): | 62.95    | 10.89    | 2.26    | 4.98    |

Die Schwefel enthaltenden Verbindungen können nach Bosies et al. (Lipids, 22 (1987) 947-951) hergestellt werden. Das entsprechende Thiol wurde jedoch nach den in Beispiel 1 zitierten Phosphorylierungsmethoden phosphoryliert und weiter umgesetzt.

Auch hier können die Modifikationen 1 bis 19 eingeführt werden, ausgehend von dem entsprechenden Alkohol.

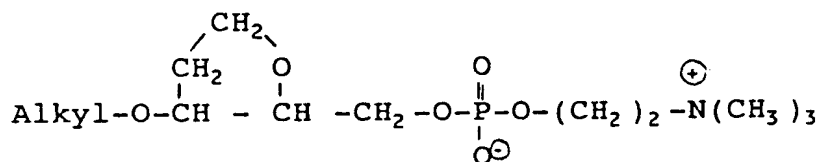
#### Beispiel 24

1-Erucylmercapto-2-methoxymethylpropyl-2'-(N,N-dihydroxyethyl-N-methyl)-ammonio-ethylphosphat  
 $\text{C}_{34}\text{H}_{70}\text{NO}_7\text{PS}$ , 667.968

#### Beispiel 25

Weiter können nach Houlihan et al. (Lipids, 22 (1987) 884-890) folgende Wirkstoffe, die Erucyl- oder Brassidyl-Reste enthalten, hergestellt werden, die auf folgendem Grundgerüst aufgebaut sind: ( $\pm$ ) -2-{Hydroxy[tetrahydro-2-(alkyl)-methylfuran-2-yl]methoxyphosphinyloxy}-N,N,N-trimethylethaniminiumhydroxid. Der Alkohol als Grundkörper wurde jedoch nach den in Beispiel 1 zitierten Methoden phosphoryliert und weiter umgesetzt.

Erucyl als Alkylrest  $\text{C}_{32}\text{H}_{64}\text{NO}_6\text{P}$ ; 589.839

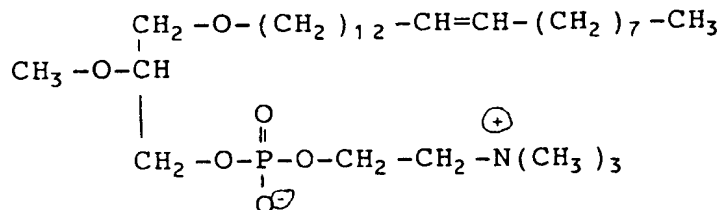


#### Beispiel 26

Brassidyl als Alkylrest  $\text{C}_{32}\text{H}_{64}\text{NO}_6\text{P}$ ; 589.839

#### Beispiel 27

1-Erucyl-3-methyl-rac-glycero-3-phosphocholin



|  |          |          |         |         |
|--|----------|----------|---------|---------|
| C <sub>31</sub> H <sub>64</sub> NO <sub>6</sub> P; 577.828 |          |          |         |         |
| ber.(%):   | C, 64.44 | H, 11.17 | N, 2.42 | P, 5.36 |
| gef.(%):   | 64.29    | 11.11    | 2.39    | 5.31    |

5

Beispiel 28

10 1-Erucyl-3-methyl-sn-glycero-3-phosphocholin

Beispiel 29

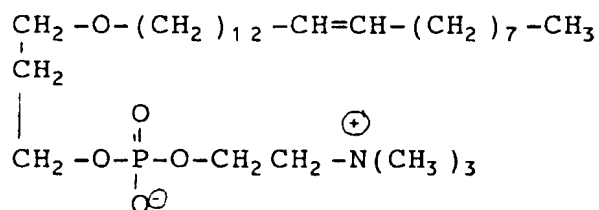
3-Erucyl-1-methyl-sn-glycero-2-phosphocholin

15

Beispiel 30

1-Erucyl-propandiol-(1,3)-phosphocholin

20



25

30

|  |          |          |         |         |
|--|----------|----------|---------|---------|
| C <sub>30</sub> H <sub>62</sub> NO <sub>5</sub> P; 547.802 |          |          |         |         |
| ber.(%):   | C, 65.78 | H, 11.41 | N, 2.56 | P, 5.65 |
| gef.(%):   | 65.61    | 11.35    | 2.49    | 5.58    |

35

Beispiel 31

1-Erucyl-propandiol-(1,2)-phosphocholin

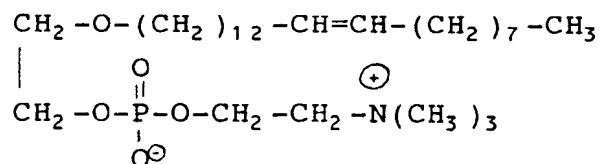
C<sub>30</sub>H<sub>62</sub>NO<sub>5</sub>P; 547.802

40

Beispiel 32

Erucyl-glykol-phosphocholin

45



50

55

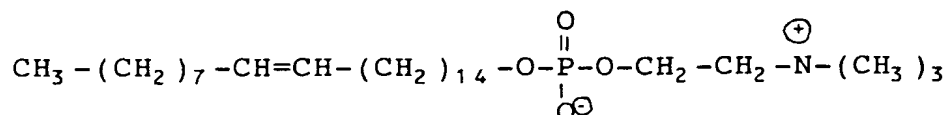
|  |          |          |         |         |
|--|----------|----------|---------|---------|
| C <sub>29</sub> H <sub>60</sub> NO <sub>5</sub> P; 533.775 |          |          |         |         |
| ber.(%):   | C, 65.26 | H, 11.33 | N, 2.62 | P, 5.80 |
| gef.(%):   | 65.17    | 11.26    | 2.57    | 5.72    |

## Gruppe II: Nervonylreste

Alle Verbindungen aus Gruppe I (Beispiel 1 bis 32) können durch analoge Verfahren auch mit Nervonylresten hergestellt werden.

## Beispiel 33

Nervonyl-Phosphocholin (cis-15-Tetracosenyl-PC)

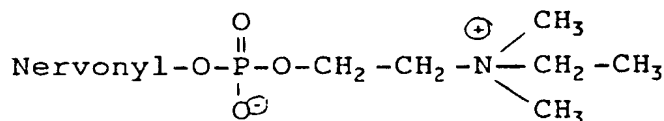


$\text{C}_{29}\text{H}_{60}\text{NO}_4\text{P}$ ; 517.776

|       |                   |                   |                 |                 |
|-------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| ber.: | C, 67.27<br>67.13 | H, 11.68<br>11.59 | N, 2.71<br>2.64 | P, 5.98<br>5.68 |
|-------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|

## Beispiel 34

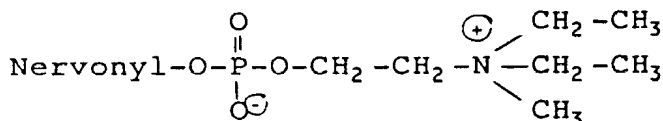
Nervonyl-phospho-(N,N-dimethyl-N-ethyl)-ethanolamin



$\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{NO}_4\text{P}$ ; 531.803

## Beispiel 35

Nervonyl-phospho-(N,N-diethyl-N-methyl)-ethanolamin



$\text{C}_{31}\text{H}_{64}\text{NO}_4\text{P}$ ; 545.830

Nervonylderivate, die zu den Verbindungen gemäß den Beispielen 7 bis 26 analog sind, werden nach den jeweils dort beschriebenen Verfahren hergestellt.

## Anwendungsbeispiel

Die Herstellung einer Hexadecylphosphocholin-Formulierung in Liposomen erfolgt gemäß DE 40 26 136.0. Hexadecylphosphocholin (12 mmol), Cholesterin (15 mmol) und DPPG (3 mmol) werden in 200 ml 2-Propanol unter Erwärmen gelöst. Dann wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der feinverteilte Lipidfilm mit 300 ml Phosphatpufferlösung, pH 7,0 versetzt. Anschließend wird das Gemisch unter langsamer Rotation 60 Minuten bei 40 °C gehalten.

Anschließend wird die erhaltene Lipidsuspension in die Druckzelle der French Press überführt und bei 740 MPa ausgepreßt und dieser Vorgang dreimal wiederholt. Die gebildete Liposomendispersion wird dann 30 Minuten bei 27.000 g und 5 °C zentrifugiert und der Überstand gewonnen.

Gleichzeitig wurde eine Erucylphosphocholin-Formulierung in physiologischer NaCl-Lösung hergestellt.

Methylnitroharnstoff-induzierte Mammakarzinome in der Ratte werden mit den wie oben hergestellten Formulierungen in einer Menge behandelt, die den angegebenen Konzentrationen von Hexadecylphosphocholin bzw. Erucylphosphocholin pro kg Ratte als Tagesdosis entspricht. Nach 4 Wochen werden die Tumorgewichte von unbehandelten Kontrolltieren auf 100 % gesetzt. Dieser Wert entspricht ungehindertem Tumorstadium. Die Tumortiere in der behandelten Gruppe erreichen Werte zwischen 0 und 100 % im Vergleich zur Kontrollgruppe, wie in Tabelle 1 angegeben.

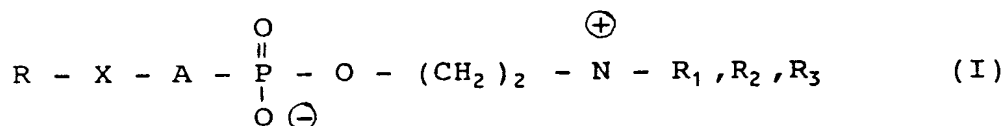
Tabelle 1

| Wirkstoffe             | Formulierung       | Menge/Tag    | Wirkung* |
|------------------------|--------------------|--------------|----------|
| Hexadecylphosphocholin | Liposomen          | 30 $\mu$ mol | < 10 %   |
|                        |                    | 10 $\mu$ mol | ~ 90 %   |
| Erucylphosphocholin    | in phys. NaCl-Lös. | 10 $\mu$ mol | < 10 %   |
|                        |                    | 6 $\mu$ mol  | < 10 %   |
|                        |                    | 3 $\mu$ mol  | < 10 %   |

\* Restgewicht des Tumors in % bezüglich der unbehandelten Kontrolle

## Patentansprüche

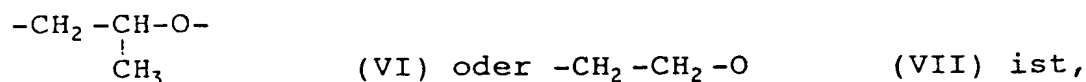
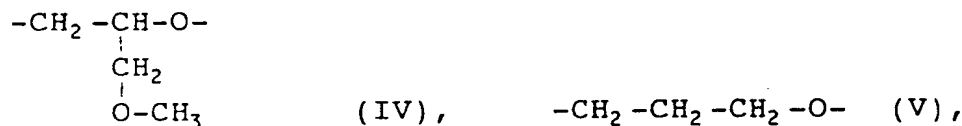
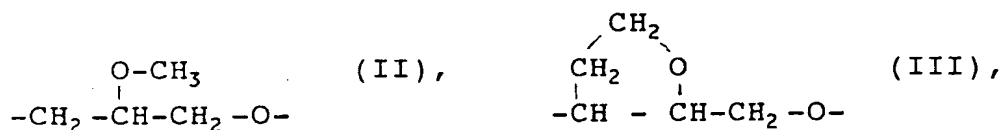
### 1. Verbindungen der allgemeinen Formel I



in der R einen Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonyl-Rest,

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> unabhängig voneinander je einen geradkettigen, verzweigten, cyclischen gesättigten oder ungesättigten Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen, der auch eine OH-Gruppe enthalten kann und wobei zwei dieser Reste auch zu einem Ring verbunden sein können,

A eine Einfachbindung oder eine der Gruppen mit den Formeln



wobei die Gruppen (II) bis (VII) eine solche Orientierung besitzen, daß das Sauerstoffatom an das Phosphoratom der Verbindung (I) gebunden ist,

und X ein Sauerstoffatom ist, wenn A eine Einfachbindung ist oder ein Sauerstoff- oder Schwefelatom bedeutet, wenn A eine der Gruppen (II) bis (VII) ist.



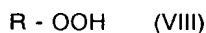
2. Verbindungen nach Anspruch 1,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß X ein Sauerstoffatom bedeutet.

3. Verbindungen nach Anspruch 1 oder 2,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß A eine Einfachbindung bedeutet.

4. Verbindungen nach den Ansprüchen 1 bis 3,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> jeweils Methylgruppen sind.

5. Erucylphosphocholin.

6. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 5,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß man eine Carbonsäure der allgemeinen Formel



in der R die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung hat, mit LiAlH<sub>4</sub> zum entsprechenden Alkohol mit der allgemeinen Formel



reduziert und dann auf an sich bekannte Weise zu einer Verbindung mit der allgemeinen Formel (I) umsetzt.

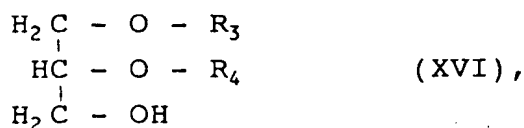
7. Arzneimittel,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß es als Wirkstoff eine oder mehrere Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5, gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger-, Hilfs-, Füll- und Verdünnungsmitteln enthält.

8. Arzneimittel nach Anspruch 7,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß es als Wirkstoff Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonylphosphocholin enthält.

9. Arzneimittel nach Anspruch 8,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß es als Wirkstoff Erucylphosphocholin enthält.

10. Arzneimittel nach einem der Ansprüche 7 bis 9,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß es den Wirkstoff in einer physiologischen Lösung enthält.

11. Arzneimittel nach einem der Ansprüche 7 bis 10,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß es zusätzlich mindestens ein Alkylglycerin der allgemeinen Formel (XVI)



in der einer der Reste R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> eine Alkylgruppe mit 2 bis 12 C-Atomen und der andere Rest ein H-Atom bedeutet, enthält.

12. Arzneimittel nach Anspruch 11,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß es ein Alkylglycerin-Gemisch enthält aus Nonyl- bzw. Octylglycerin, Hexyl- bzw. Pentylglycerin und Propyl- bzw. Ethylglycerin und Wasser.
13. Verwendung eines Arzneimittels nach einem der Ansprüche 7 bis 12 zur Bekämpfung von Tumoren.
14. Verwendung eines Arzneimittels nach einem der Ansprüche 7 bis 12 zur Bekämpfung von Protozoen- und Pilzkrankungen, insbesondere der Leishmaniasis.
15. Verwendung eines Arzneimittels nach einem der Ansprüche 7 bis 12 zur Therapie von Autoimmunerkrankungen, insbesondere von multipler Sklerose.
16. Verwendung eines Arzneimittels nach einem der Ansprüche 7 bis 12 zur Therapie von Knochenmarksschädigungen durch Behandlung mit Zytostatika und anderen knochenmarksschädigenden Wirkstoffen.
17. Verfahren zur Herstellung eines Antitumormittels,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß man eine Formulierung herstellt, die als Wirkstoff eine oder mehrere Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5 enthält, gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger-, Hilfs-, Füll- und Verdünnungsmitteln.
18. Verfahren zur Herstellung eines Mittels zur Bekämpfung von Protozoen- und Pilzkrankungen, insbesondere von Leishmaniasis,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß man eine Formulierung herstellt, die als Wirkstoff eine oder mehrere Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5 enthält, gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger-, Hilfs-, Füll- und Verdünnungsmitteln.
19. Verfahren zur Herstellung eines Mittels zur Therapie von Autoimmunerkrankungen, insbesondere von Multipler Sklerose,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß man eine Formulierung herstellt, die als Wirkstoff eine oder mehrere Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5 enthält, gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger-, Hilfs-, Füll- und Verdünnungsmitteln.
20. Verfahren zur Herstellung eines Mittels zur Therapie von Knochenmarksschädigungen,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß man eine Formulierung herstellt, die als Wirkstoff eine oder mehrere Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5 enthält, gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger-, Hilfs-, Füll- und Verdünnungsmitteln.
21. Verfahren zur Bekämpfung von Tumoren, Protozoen- und Pilzkrankungen, Autoimmunerkrankungen oder Knochenmarksschädigungen,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß man dem Patienten ein Arzneimittel nach einem der Ansprüche 7 bis 12 verabreicht.
22. Verfahren nach Anspruch 21,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß man das Arzneimittel intravenös verabreicht.
23. Verfahren nach Anspruch 21,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß man das Arzneimittel subkutan verabreicht.
24. Verfahren nach Anspruch 21,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß man das Arzneimittel topisch verabreicht.



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



Veröffentlichungsnummer: **0 507 337 A3**

12

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

21 Anmeldenummer: **92105822.8**

51 Int. Cl.<sup>5</sup>: **C07F 9/113, A61K 31/66,  
C07F 9/572, C07F 9/59,  
C07F 9/10, C07F 9/173,  
C07F 9/655, C07F 9/09**

22 Anmeldetag: **03.04.92**

30 Priorität: **05.04.91 DE 4111105**

43 Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
**07.10.92 Patentblatt 92/41**

84 Benannte Vertragsstaaten:  
**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU MC  
NL PT SE**

88 Veröffentlichungstag des später veröffentlichten  
Recherchenberichts: **27.01.93 Patentblatt 93/04**

71 Anmelder: **Max-Planck-Gesellschaft zur  
Förderung der Wissenschaften e.V.**

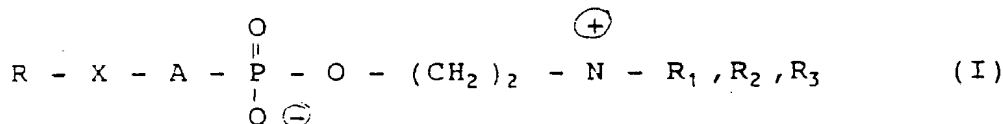
**Bunsenstrasse 10  
W-3400 Göttingen(DE)**

72 Erfinder: **Eibl, Hansjörg, Prof. Dr.  
Heinrich-Deppe-Ring 22  
W-3406 Bovenden-Eddighausen(DE)**

74 Vertreter: **Huber, Bernhard, Dipl.-Chem. et al  
Patentanwälte H. Weickmann, Dr. K. Fincke  
F.A. Weickmann, B. Huber Dr. H. Liska, Dr. J.  
Prechtel Kopernikusstrasse 9 Postfach 86 08  
20  
W-8000 München 86(DE)**

54 **Neue Erucyl-, Brassidyl- und Nervonylderivate.**

57 Die Erfindung betrifft Verbindungen der allgemeinen Formel I

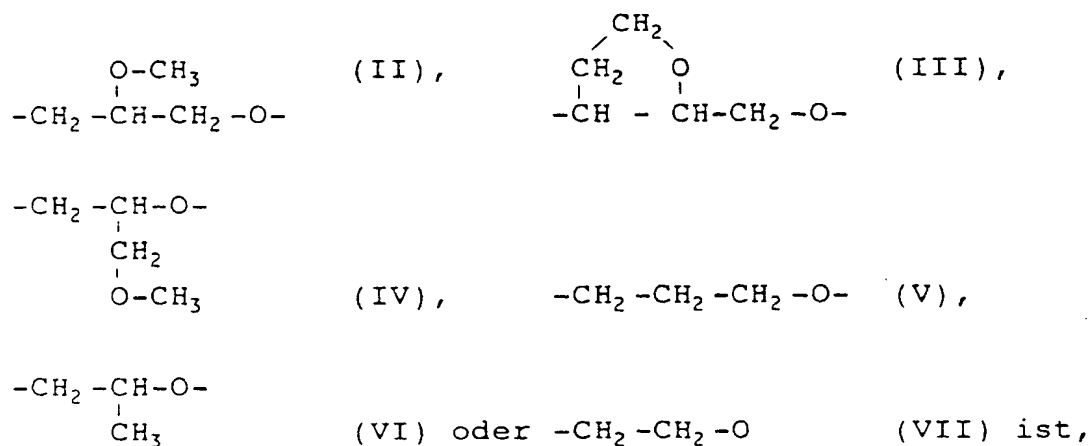


in der R einen Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonyl-Rest,

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> unabhängig voneinander je einen geradkettigen, verzweigten, cyclischen gesättigten oder ungesättigten Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen, der auch eine OH-Gruppe enthalten kann und wobei zwei dieser Reste auch zu einem Ring verbunden sein können,

A eine Einfachbindung oder eine der Gruppen mit den Formeln

EP 0 507 337 A3



wobei die Gruppen (II) bis (VII) eine solche Orientierung besitzen, daß das Sauerstoffatom an das Phosphoratom der Verbindung (I) gebunden ist,  
 und X ein Sauerstoffatom ist, wenn A eine Einfachbindung ist oder ein Sauerstoff- oder Schwefelatom bedeutet,  
 wenn A eine der Gruppen (II) bis (VII) ist, sowie deren Verwendung als Arzneimittel.



Europäisches  
Patentamt

# EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

EP 92 10 5822

| EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE  |  |   |   |
|---|--|---|---|
| Kategorie   | Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile  | Betrifft Anspruch   | KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl.5)  |
| D,Y   | EP-A-0 108 565 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES,LTD.)<br>* das ganze Dokument *<br>---  | 1,7-24  | C07F9/113<br>A61K31/66<br>C07F9/572<br>C07F9/59<br>C07F9/10<br>C07F9/173<br>C07F9/655<br>C07F9/09 |
| Y   | US-A-4 562 005 (SHOSHICHI NOJIMA)<br>* das ganze Dokument *<br>---   | 1,7-24  |   |
| Y   | EP-A-0 061 872 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES,LTD.)<br>* das ganze Dokument *<br>---  | 1,7-24  |   |
| P,X   | CANCER CHEMOTHERAPY AND PHARMACOLOGY<br>Bb. 30, Nr.2, 1992, Seiten 105- 112<br>J. KÖTTING ' Alkylphosphocholines'<br>* das ganze Dokument *<br>----- | 1-24  |   |
|   |  |   | RECHERCHIERTE<br>SACHGEBIETE (Int. Cl.5)  |
|   |  |   | C07F<br>A61K  |
| Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt   |  |   |   |
| Recherchenart<br>DEN HAAG   |  | Abschlußdatum der Recherche<br>24 NOVEMBER 1992   | Prüfer<br>BESLIER L.M.  |
| KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE   |  | T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze<br>E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist<br>D : in der Anmeldung angeführtes Dokument<br>L : aus andern Gründen angeführtes Dokument<br>.....<br>& : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument |   |
| X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet<br>Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer andern Veröffentlichung derselben Kategorie<br>A : technologischer Hintergrund<br>O : mündliche Offenbarung<br>P : Zwischenliteratur |  |   |   |

EPO FORM 1501 01.82 (P0403)

